

**Die klinische Bedeutung der Proteinaseinhibitoren
in menschlichen Schleimsekreten
unter besonderer Berücksichtigung des Zervixmukus**

Daniela Krumme

1978



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549025_0043

Aus der Abteilung für Klinische Chemie und Klinische Biochemie
in der Chirurgischen Klinik der Universität München
Vorstand Prof. Dr. H. Fritz

Die klinische Bedeutung der Proteinaseinhibitoren
in menschlichen Schleimsekreten
unter besonderer Berücksichtigung des Zervixmukus

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Daniela Krumme
aus München

1978



Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin der Universität München

Berichterstatter:

Prof. Dr. H. Fritz

Dekan:

Prof. Dr. med. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung:

14. Februar 1978

Herrn Prof. Dr. H. Fritz danke ich für die Überlassung des Themas
und seine freundliche Unterstützung bei der Ausarbeitung

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1 Einleitung	1
2 Bestandteile des menschlichen Zervixmukus	2
3 Allgemeine Charakteristik von Proteinaseinhibitoren	3
4 Allgemeine physiologische Bedeutung von Proteinaseinhibitoren	3
5 Die Proteinaseinhibitoren im Zervixmukus	4
5.1 Inter- α -Trypsin-Inhibitor	4
5.2 α_{1x} -Antichymotrypsin	5
5.3 α_1 -Antritypsin	5
5.4 Das Verhalten von Inter- α -Trypsin-Inhibitor, α_{1x} -Antichymotrypsin und α_1 -Antitrypsin im Verlauf eines Zyklus	6
5.5 α_2 -Makroglobulin, Antithrombin III und der C $\bar{I}$ -Inaktivator	7
5.6 Der säurestabile Proteinaseinhibitor (Antileukoprotease)	8
5.6.1 In menschlichem Sperma	8
5.6.2 In menschlichem Zervixmukus	8
5.6.3 Eigenschaften und Verteilung der Antileukoprotease	9
6 Klinische Bedeutung der Proteinaseinhibitoren im Zervixmukus und anderen menschlichen Schleimsekreten	11
7 Die Proteinaseinhibitoren beim Befruchtungsvorgang	12
8 Komponenten des Kallikrein-Kinin-Systems im Zervixmukus	13
9 Zusammenfassung	14
10 Tabellen und Abbildungen	15
11 Literaturverzeichnis	31

1 EINLEITUNG

Vom Zeitpunkt der Menarche an wird das Leben der Frau von zyklischen Ereignissen ihres Körpers beeinflusst, die der Fortpflanzung dienen.

Die Forschungsergebnisse der letzten Jahre haben gezeigt, daß dabei der Cervix uteri eine große Bedeutung zukommt. Die Zervix stellt aufgrund ihrer anatomischen Gegebenheiten ein Bindeglied zwischen äußerem und innerem Genitale dar und spielt beim Transport der Spermien eine entscheidende Rolle.

Die Zervix wird mit Eintritt der Geschlechtsreife durch die Wirkung der Sexualhormone voluminöser und das Scheidengewölbe tiefer. Das Zylinderepithel verzweigt sich kypfenförmig in die Tiefe, so daß eine große sekretorische Oberfläche gebildet wird. Durch diese Drüseneinheiten wird der Mukus produziert.

Er unterliegt unter Normalbedingungen sowohl qualitativen wie quantitativen Veränderungen, die von der jeweiligen Phase des Menstruationszyklus bestimmt werden. Unter dem Einfluß von Östrogenen wird der Zervixschleim klar, seine Spinnbarkeit nimmt zu und es bilden sich auf dem Objektträger typische farnkrautähnliche Kristallisationen, während Zell- und Proteingehalt abnimmt. In der Sekretionsphase, die durch Progesteron bestimmt wird, nimmt die Menge des Mukus und seine Spinnbarkeit wieder ab, das Kristallisationsbild wird uncharakteristisch, während Zell- und Proteingehalt zunehmen (siehe Abb. 1).

Für die Viskosität des Mukus sind Mukoide verantwortlich; d.s. Glykoproteine, die ein Molekulargewicht von über einer Million haben und zu ungefähr 80 % aus Kohlenhydraten und zu etwa 20 % aus Polypeptiden bestehen. Diese Mukoide bilden Ketten, diese wiederum Filamente und durch die Anordnung der Seitenketten Micellen, die die rheologischen Eigenschaften des Mukus bestimmen. Die Flexibilität des Mukus hängt weiter von dem relativen Anteil von freien Wassermolekülen ab, die sich im intermicellaren Raum befinden.

Während der Ovulation werden die Micellen in parallele Anordnung gebracht und bilden so "lange Straßen". Diese Anordnung zum Ovulationszeitpunkt ist für den erfolgreichen Transport der Spermien von großer Wichtigkeit. In der Lutealphase trennen sich die Micellen und bilden ein dichtes Maschenwerk, so daß der Mukus eine Barriere gegen die Penetration der Spermien bildet.

2 BESTANDTEILE DES MENSCHLICHEN ZERVIXMUKUS

Die Zervixflüssigkeit besteht aus einer Mischung von Substanzen, die von verschiedenen Zellen und Organellen stammen (Schumacher 1973, Cinader und de Weck 1976, Bhushana Rao et al. 1976). Die Hauptbestandteile sind Substanzen, die von den sekretorischen Epithelzellen ausgeschieden werden (besonders Mukoide, wie oben beschrieben) und Plasmaproteine, die durch Transsudation in den Genitaltrakt gelangen. Unter anderen findet man die Proteinaseinhibitoren α_1 -Antitrypsin, α_{1x} -Antichymotrypsin, Inter- α -Trypsin-Inhibitor, sowie die Immunglobuline IgA und IgG, während IgM unter physiologischen Bedingungen nur gelegentlich in Spuren vorhanden ist. Allerdings erreichen nicht alle Immunglobuline den Zervixmukus durch Transsudation aus dem Plasma, sondern es werden einige durch Plasmazellen des Zervixgewebes selbst produziert, wobei IgA produzierende Zellen in größerer Anzahl vorhanden zu sein scheinen. Die Konzentration der Immunglobuline unterliegt einem Rhythmus, der vom Zyklus bestimmt wird. Die präovulatorischen Werte von IgG zeigen nur annähernd 1/100 oder weniger der normalen Serumkonzentration, während der IgA Spiegel des Mukus zu dieser Zeit, verglichen mit seiner Serumkonzentration, etwas höher liegt als der IgG-Spiegel. Zusätzlich zu diesen Plasmaproteinen wurden im Zervixmukus einige Proteine entdeckt, die im Plasma ganz fehlen oder nur spärlich vorhanden sind, wie

Laktoferrin, ein eisenbindendes Protein, das einen bakteriostatischen Effekt hat und von den Neutrophilen, die die Submukosa infiltrieren, freigesetzt wird (Weinberg 1971),

Lysozym, ein basisches Protein mit Enzymcharakter, das eine lytische Aktivität gegen Wandstrukturen der Bakterien besitzt (Glynn und Milne 1967) sowie Amylase, alkalische Phosphatase, Ribonuklease, einen Plasminogenaktivator und einen Proteinaseinhibitor.

In verschiedenen Stadien des Ovulationszyklus kann man zusätzlich beträchtliche Mengen an Substanzen finden, die von Leukozyten, Bakterien und abgeschilferten Epithelien stammen, sowie Spermien und Seminalplasma und auch Bestandteile der Sekretion des Endometriums.

Diese Vielfalt erschwert die Aufdeckung der Funktion der Einzelbestandteile. So kann z.B. die unspezifische proteolytische Aktivität, die kürzlich im Mukus entdeckt wurde (Schumacher 1973), entweder von Proteinasen der Leukozyten herrühren wie

Elastase, Kollagenase oder Kathepsin G, oder von Proteinasen, die bekanntermaßen in der Endometriumflüssigkeit vorkommen. Dasselbe gilt für den Plasminogenaktivator (Beller und Weiss 1966), der in beträchtlicher Menge sowohl in polymorphkernigen Leukozyten als auch im Endometrium vorkommt.

Diese Arbeit soll diejenigen Proteinaseinhibitoren des Mukus behandeln, die sich schon genauer beschreiben lassen sowie ihre möglichen biologischen Partner.

3 ALLGEMEINE CHARAKTERISTIK VON PROTEINASEINHIBITOREN

Laskowski und Sealock (1971) definierten Protein-Proteinase-Inhibitoren als Proteine, die mit einer oder mehreren Proteinasen reversible stöchiometrische Komplexe bilden, in denen alle katalytischen Funktionen des Enzyms kompetitiv gehemmt sind.

Die Molekulargewichte liegen bei den niedermolekularen Inhibitoren, die zugleich säure- und thermostabil sind, zwischen 4 000 und ungefähr 13 000, die der hochmolekularen säureinstabilen Inhibitoren, die hauptsächlich im Plasma vorhanden sind, zwischen 50 000 des α_1 -Antitrypsin bis über 800 000 des α_2 -Makroglobulin, das damit das größte bekannte Inhibitormolekül darstellt. Die gehemmten Proteinasen sind in der Regel Endopeptidasen. Je nach Hemmspektrum, d.h. der Anzahl der von einem Inhibitor gehemmten unterschiedlichen Enzyme können die Inhibitoren in engspezifische bzw. breitspezifische Inhibitoren unterteilt werden. Breitspezifische Inhibitoren können außerdem ein oder mehrere Hemmzentren besitzen.

Der Hemmtyp des Inhibitors gibt Auskunft über den zeitlichen Verlauf der Enzymhemmung. Bei "progressiven" Inhibitoren nimmt die Hemmaktivität relativ langsam zu bis ein konstanter Hemmgrad, zum Teil erst nach Stunden, erreicht ist. "Permanente" Inhibitoren zeigen keine zeitabhängige Veränderung ihres Hemmgrads. Bei temporären Inhibitoren läßt die Hemmaktivität im Laufe der Zeit nach, da das komplexierte Enzym den Inhibitor proteolytisch abbaut.

4 ALLGEMEINE PHYSIOLOGISCHE BEDEUTUNG VON PROTEINASEINHIBITOREN

Obwohl die physiologische Funktion vieler natürlicher Proteinaseinhibitoren noch nicht eindeutig abgeklärt ist, kann allgemein angenommen werden, daß sie als natürliche

Antagonisten der Proteinasen regulativ bei proteolytischen Vorgängen eingreifen. Proteolytische Enzyme sind außer als Nahrungseiweißverwerter entscheidend bei der Mobilisierung von Gewebsproteinen für den Intermediärstoffwechsel, der Aktivierung von Proenzymen, der Steuerung der Blutgerinnung und Fibrinolyse sowie an immunologischen Prozessen beteiligt. Ferner spielen sie eine Rolle bei der Freisetzung pharmakologisch aktiver Polypeptide wie der Kinine und Angiotensine, bei Entzündungserscheinungen und beim Befruchtungsvorgang (Reich et al. 1975). So konnten außer den Inhibitoren im Mukus der Zervix (Schumacher 1970, Wallner et al. 1974) in nahezu allen menschlichen Körperflüssigkeiten Inhibitoren mit zum Teil unterschiedlicher Hemmspezifität nachgewiesen werden, so z.B. im Bronchial- und Nasensekret (Hochstrasser et al. 1972), in Tränen (Küppers 1971), Kolostrum (Laskowski jr. et al. 1952) Synovialflüssigkeit (Shtacher et al. 1973), Harn (Astrup et al. 1955), Pankreassaft (Greene et al. 1973), im Sperma (Fritz et al. 1975) und im Serum (Heimburger et al. 1971, 1974).

5 DIE PROTEINASEINHIBITOREN IM ZERVIXMUKUS

Proteinaseinhibitoren, die in menschlichen Schleimsekreten einschließlich Zervixmukus vorkommen, sind in der Tabelle 1 aufgelistet.

Die hochmolekularen, aus dem Plasma stammenden Inhibitoren sind dabei hauptsächlich durch ihr breites Hemmspektrum gekennzeichnet (siehe Tab. 2). Sie werden im folgenden näher beschrieben.

5.1 INTER- α -TRYPSIN-INHIBITOR

Das Protein ist ein wirksamer Trypsin- und in geringem Maße auch ein Chymotrypsin-inhibitor mit einem Molekulargewicht von 160 000 und einem Kohlenhydratanteil von 8,4%. Es stellt jedoch insgesamt nur etwa 3% der gesamten Trypsinhemmkapazität des Plasmas. Seine Veränderungen im Verlauf von Krankheiten sind weitgehend unbekannt.

Im Zervixmukus ist es zum Zeitpunkt der Ovulation in extrem niedrigen Konzentrationen zu finden; bei manchen Individuen ist es sogar gar nicht vorhanden, so daß seine Fähigkeit, Akrosin der Spermien schnell und wirksam zu hemmen (Fritz et al. 1972b), für den Fertilitätsprozeß nicht von großer Bedeutung sein kann.

5.2 α_{1x} -ANTICHYMOTRYPSIN

Das Protein ist ein spezifischer Chymotrypsininhibitor mit einem Molekulargewicht von 75 000 und einem Kohlenhydratanteil von 26,8%. Im Plasma reagiert α_{1x} -Antichymotrypsin wie ein "akute Phase" Protein und beginnt bereits acht Stunden nach Gewebläsionen anzusteigen. Eine so schnelle Reaktion zeigt von den anderen Plasmaproteinen nur das C-reaktive Protein (Aronsen et al. 1972). Diese Sofortreaktion von α_{1x} -Antichymotrypsin wird bei Traumen, aseptischen Nekrosen und akuten Infektionen gefunden.

Die Funktion des α_{1x} -Antichymotrypsins als Teil der akuten Entzündungsantwort wurde lange Zeit jedoch nicht entdeckt. Ryley and Brogan (1973) haben zum ersten Mal eine Schutzfunktion von α_{1x} -Antichymotrypsin an den Schleimhautmembranen angenommen, da die relative Konzentration im Bronchialsekret höher ist als die anderer Plasmaproteine. Kürzlich wurde nun entdeckt, daß α_{1x} -Antichymotrypsin ein wirksamer Inhibitor des Kathepsin G der Granulozyten ist (Ohlsson und Akesson 1976).

5.3 α_1 -ANTITRYPSIN

Dieses Protein stellt im normalen Plasma ca. 90% des gesamten Hemmpotentials.

Es hat ein Molekulargewicht von 50 000 und einen Kohlenhydratanteil von 12%.

Von α_1 -Antitrypsin werden die Pankreasenzyme Trypsin, Chymotrypsin (Schwick et al. 1966) und Elastase (Kaplan et al. 1973), die Granulozytenenzyme Elastase (Ohlsson 1971 f, Janoff 1972, Liebermann und Kaneshiro 1972; Ohlsson und Olsson 1974) und Kollagenase (Ohlsson und Olsson 1973) und die Haut- und Synovia-Kollagenase (Tokoro et al. 1972; Harris et al. 1969) fest gebunden und durch eine Sofortreaktion in einem molaren Verhältnis von 1:1, wie es zuerst für Trypsin gezeigt werden konnte (Bundy und Mehl 1959), inaktiviert.

Weitere proteolytische Enzyme wie Plasmin (Rimon et al. 1966; Heimbürger et al. 1971), Kallikrein (Fritz et al. 1969, 1972 a) und Akrosin (Fritz et al. 1972 b) werden durch α_1 -Antitrypsin in einer langsamen Reaktion inaktiviert. Auch der Spiegel von α_1 -Antitrypsin steigt bei den meisten akuten Entzündungen, die durch Infektionen oder Nekrosen hervorgerufen werden an, ähnlich wie die akute-Phase Proteine α_1 -Glykoprotein, Haptoglobin und Fibrinogen (Laurell 1972 b).

Analysen der Granulozyten haben ergeben, daß etwa 5% des Trockengewichts der Zellen Elastase und Kollagenase ausmacht (Ohlsson und Olsson 1974). Diese Enzyme werden von den Granulozyten wahrscheinlich in größeren Mengen in den Extrazellulärraum freigesetzt als Proteinasen aller anderen Zellen.

α_1 -Antitrypsin ist der Inhibitor, der in größter Menge zur Verfügung steht, um den Effekt der freigesetzten Enzyme zu steuern.

Menschen mit genetisch bedingtem hochgradigem α_1 -Antitrypsin-Mangel sind höchstwahrscheinlich deshalb gegen Lungenemphysem, chronische Bronchitis und andere Erkrankungen der Atemwege, also Prozesse, an denen Proteinase ursächlich beteiligt sind, besonders anfällig (Laurell et al, 1963; Mittmann 1972).

In mukösen Sekreten wie z.B. Seminalplasma, Zervixsekret, Bronchialsekret und Tränenflüssigkeit findet sich α_1 -Antitrypsin in einer, verglichen mit dem Plasma, wesentlich niedrigeren Konzentration (ca. 10% des Plasmawertes). Es liegt auch hier hauptsächlich in freier Form vor und wird erst im Laufe von Entzündungen an freigesetzte Proteinase in Form eines Enzym-Inhibitor-Komplexes gebunden.

α_1 -Antitrypsin stellt zusätzlich einen Progressivinhibitor für Akrosin dar, kann jedoch ähnlich wie die anderen hochmolekularen Plasma-Proteinaseinhibitoren nicht mit dem Akrosin interferieren, da es zum Ovulationszeitpunkt nur in sehr niedriger Konzentration im Mukus vorhanden ist.

5.4 DAS VERHALTEN VON INTER- α -TRYPSIN-INHIBITOR, α_{1x} -ANTICHYMO-TRYPSIN UND α_1 -ANTITRYPSIN IM VERLAUF EINES ZYKLUS

In ovulatorischen Zyklen werden, wie beschrieben, die niedrigsten Konzentrationswerte im Mukus für Inter- α -Trypsin-Inhibitor, α_{1x} -Antichymotrypsin und α_1 -Antitrypsin kurz vor dem Anstieg der Basaltemperatur gefunden, was mit hoher Spinnbarkeit, positiven Farnkrautphänomen und einer geringen Anzahl oder Abwesenheit von Leukozyten einhergeht (siehe Abb. 2).

Es wurden Zyklusstudien unter dem Einfluß von hormonellen Sequenzpräparaten durchgeführt, wobei ein auffallender Unterschied zu den ovulatorischen Zyklen festgestellt wurde, besonders im Hinblick auf das fehlende Konzentrationsminimum der Proteine in der Mitte des Zyklus. Die hohen Konzentrationswerte, die zu Beginn des Zyklus beob-

achtet wurden, nahmen nach wenigen Tagen Östrogeneinnahme deutlich ab. Sie blieben auf diesem niedrigeren Spiegel bis zum Beginn der Gestagenzufuhr. Die Plateauwerte während Östrogenzufuhr sind dabei noch beträchtlich höher als die präovulatorischen Werte. Die Amplitude der Veränderung der Konzentrationswerte während ovulatorischen Zyklen ist ausgeprägter als bei Gabe von Sequenzpräparaten (siehe Abb. 3).

Zusätzlich konnten unter der Gabe von hormonellen Kontrazeptiva (Sequenzpräparate) die aus dem Plasma stammenden Proteinaseinhibitoren Antithrombin III und der $C1\bar{}$ -Inaktivator im Mukus gefunden werden (Schumacher 1973).

Diese Veränderung der Konzentrationen der Proteine könnte das Ergebnis einer Zu- oder Abnahme des Wassergehalts des Zervixsekretes sein. Dennoch kann ein einfacher Verdünnungs- bzw. Konzentrierungsmechanismus nicht der einzige dafür verantwortliche Faktor sein, da der Unterschied zwischen Minimal- und Maximalwerten oft sehr groß ist.

Es ist auch möglich, daß die Hormone entweder eine direkte Änderung der Kapillarpermeabilität bewirken oder Faktoren beeinflussen, die wiederum die Kapillarpermeabilität mitbestimmen. Endgültige Aussagen darüber können nach dem gegenwärtigen Stand der Kenntnisse noch nicht gemacht werden.

5.5 α_2 -MAKROGLOBULIN, ANTITHROMBIN III UND DER $C1\bar{}$ -INAKTIVATOR

α_2 -Makroglobulin ist der größte Proteinaseinhibitor des Plasmas mit einem Molekulargewicht von 750 000. Es ist zu einem gewissen Grade, wie Antithrombin III und der $C1\bar{}$ -Inaktivator, an der Regulation der Aktivität der Faktoren der Blutgerinnung (besonders von Plasmin) und/oder des Komplementsystems und/oder des Plasma-Kallikrein-Systems (besonders von Plasma-Kallikrein) (Heimbürger 1975) beteiligt. Es hat jedoch eine zusätzliche sehr wichtige Funktion: es ist entweder direkt oder indirekt an der Eliminierung von Proteinasen beteiligt, die im Plasma freigesetzt werden. In dieser Hinsicht scheint es besonders für die Beseitigung von neutralen Granulozytenproteinasen wie Kollagenase, Kathepsin G und Elastase verantwortlich zu sein (Ohlsson 1974; Ohlsson 1976). Im menschlichen Körper werden beträchtliche Mengen dieser Enzyme produziert (je 1 g Elastase und Kollagenase pro Tag), die neutralisiert und laufend eliminiert werden müssen, um schwerwiegende pathologische Prozesse zu verhindern. Jedoch werden α_2 -Makroglobulin wie auch Antithrombin III und der $C1\bar{}$ Inaktivator

normalerweise nicht im menschlichen Zervixmukus gefunden.

Dafür wurde kürzlich im Zervixmukus ein niedermolekularer Proteinaseinhibitor gefunden, der nicht aus dem Plasma stammt (Schiessler et al. 1977).

5.6 DER SÄURESTABILE PROTEINASEINHIBITOR (ANTILEUKOPROTEASE)

5.6.1 In menschlichem Sperma

Die säurestabile sog. Antileukoprotease konnte zum ersten Mal im menschlichen Sperma gefunden werden (Fink et al. 1971, Fritz et al. 1975).

Bei der Fraktionierung von Sperma mittels Gelfiltration bei physiologischem pH konnten drei Fraktionen aufgetrennt werden, die alle Trypsin hemmen (siehe Abb. 4).

Die Fraktion mit dem höchsten Molekulargewicht (MG ca. 50 000, linker Gipfel in Abb. 4) konnte als der Plasmainhibitor α_1 -Antitrypsin identifiziert werden, während sich die zweite und dritte Fraktion als säurestabile Inhibitoren erwiesen mit Molekulargewichten von ca. 6 000 und 11 000. Tabelle 3 zeigt das Hemmspektrum dieser Proteine. Während HUSI-II (human seminal inhibitor II; MG ca. 6 000) ausschließlich die Proteinasen Akrosin und Trypsin hemmt, ist die Antileukoprotease (abgekürzt HUSI-I = human seminal inhibitor I, MG ca. 11 000) hauptsächlich gegen Chymotrypsin und Chymotrypsin-ähnliche Enzyme wie Elastase und Kathepsin G gerichtet.

Bemerkenswert ist außerdem die unterschiedliche Affinität des Inhibitors zu Elastasen verschiedener Herkunft. Während bei der Inkubation von Elastase aus Schweinepankreas mit einem hohen Überschuß an HUSI-I keinerlei Hemmung der Enzymaktivität nachweisbar ist, hemmt dieser Inhibitor menschliche Granulozyten-Elastase gut. Diese wirkungsvolle selektive Hemmung der Elastase aus menschlichen Granulozyten ist zur Beurteilung der physiologischen Funktion dieses Inhibitors ein wesentlicher Anhaltspunkt.

5.6.2 In menschlichem Zervixmukus

Bei der Gelfiltration von Zervixmukus unter den gleichen Bedingungen (siehe Abb. 4) konnten nur zwei Trypsin-hemmende Fraktionen getrennt werden. Sie entsprachen dem α_1 -Antitrypsin und einem dem HUSI-I des Spermas ähnlichen Inhibitorprotein, abgekürzt CUSI (Cervical mucus inhibitor) mit einem Molekulargewicht von etwa 11 000 (Wallner und Fritz 1974, Wallner et al. 1976). Ähnliche Ergebnisse lieferte die Frak-

tionierung von menschlichem Bronchialschleim (Hochstrasser et al. 1973).

Saure Extrakte (pH 0.5-2.0) des Zervixmukus enthielten nur den niedermolekularen CUSI (Abb. 5). Spuren von Trypsin-Hemmaktivität, die im Eluat der Sephadexsäule vor CUSI auftraten (bei den Fraktionen 75-80 und 90-110 in Abb. 5) sind wahrscheinlich auf solche säurestabile Trypsininhibitoren zurückzuführen, die vor dem Ansäuern vom Inter- α -Trypsin Inhibitor proteolytisch abgespalten wurden (Hochstrasser et al. 1976). Diese Experimente zeigen deutlich, daß im menschlichen Zervixmukus kein dem HUSI-II des Spermas entsprechender Akrosininhibitor vorhanden ist.

5.6.3 Eigenschaften und Verteilung der Antileukoprotease

Weitere wichtige Eigenschaften der säurestabilen Inhibitoren des menschlichen Zervix- und Bronchialschleims sowie des Seminalplasmas sind in Tabelle 4 aufgelistet. Offensichtlich sind die Aminosäurezusammensetzungen von HUSI-I, CUSI und dem Bronchialinhibitor sehr ähnlich, was darauf hindeutet, daß dasselbe Inhibitorprotein in all diesen Schleimflüssigkeiten vorhanden ist.

Diese Ansicht wird auch durch die Ergebnisse immunologischer Experimente unterstützt (Fritz et al. 1975, Ohlsson et al. 1976). Bemerkenswerterweise wurden HUSI-I- oder HUSI-II-ähnliche Inhibitoren bisher weder im Plasma noch in Blutzellen gefunden.

Mit Hilfe der indirekten Immunfluoreszenz-Färbetechnik, unter Verwendung monospezifischer Antikörper gegen HUSI-I, konnte der Sekretionsort des Zervixmukus-Inhibitors im Zervixepithel, vorallem im Bereich des oberen Zervixanteils, lokalisiert werden (Wallner et al. 1975, Schill et al. 1977) (siehe Abb. 6).

Mit derselben Fluoreszenztechnik konnte die Antileukoprotease am akrosomalen Kopfbereich von gewaschenen ejakulierten Spermien beobachtet werden, allerdings erst nach vorhergehender Fixierung mit Formaldehyd. Anscheinend haftet der Inhibitor nur ganz leicht an der Spermienmembran, so daß er beim Waschen der Spermien ohne vorhergehende Fixierung weitgehend abgelöst wird (Dietl et al. 1976). Wahrscheinlich wird die Antileukoprotease, die offensichtlich aus den Samenbläschen stammt (Schill und Schiessler 1977), erst nach der Ejakulation von den Spermien aus dem Seminalplasma aufgenommen (Fritz et al. 1975).

Tegner und Ohlsson (1977) konnten kürzlich die Antileukoprotease auch im Ziliene epithel der Trachea und den seromukösen Drüsen nachweisen. Sie verwendeten dabei eine indirekte Immunperoxydase-Methode und gegen bronchiale Antileukoprotease gerichtete Antikörper. Diese Antileukoprotease ist von der des Zervixmukus und des Seminalplasmas nicht zu unterscheiden (Ohlsson et al. 1976; Schiessler 1976).

Der Konzentrationsverlauf dieses Inhibitors und im Vergleich dazu auch von α_1 -Antitrypsin während fünf Ovulationszyklen ist in Abb. 7 dargestellt. Albumin und der Inter- α -Trypsin-Inhibitor (soweit er überhaupt vorhanden ist) zeigen einen ähnlichen Konzentrationsverlauf, während die Konzentration von α_{1x} -Antichymotrypsin in der Proliferationsphase deutlich niedriger liegen kann als in der Lutealphase (Schumacher 1973; Wallner 1974 unveröffentlichte Beobachtung).

Im Gegensatz zu dem Konzentrationsverlauf der aus dem Plasma stammenden Proteine bleibt die Konzentration der Antileukoprotease um den Zeitpunkt der Ovulation herum relativ hoch (siehe Abb. 7). Dieses unterschiedliche Verhalten kann dadurch noch verdeutlicht werden, daß man die Konzentration der Antileukoprotease und des α_1 -Antitrypsins auf die des Albumins bezieht, da die beiden letztgenannten Substanzen durch Transsudation aus dem Plasma übertreten (siehe Abb. 8).

Diese Beobachtung weist auf eine erhöhte Syntheserate der Antileukoprotease durch die sekretorischen Epithelzellen kurz vor und während der Ovulation hin.

Der Konzentrationsverlauf der Antileukoprotease variiert beträchtlich von Zyklus zu Zyklus und besonders von Frau zu Frau. Es ist auch sehr interessant, daß höchste Spiegel dieses Inhibitors gegen Ende der Schwangerschaft gefunden werden.

Der Konzentrationsverlauf der Antileukoprotease im Zervixmukus einer Patientin, die Sexualhormone einnahm, wird in Abb. 9 gezeigt. Nach ein paar Tagen Östrogeneinnahme erreicht die Antileukoprotease einen hohen Spiegel, der auf diesem Niveau konstant bleibt und erst wieder nach Beginn der Gestageneinnahme abnimmt. Von den Proteinaseinhibitoren aus dem Plasma ist ein gegenteiliges Verhalten bekannt (vgl. Abb. 3; Schumacher 1973).

Besonders auffallend ist also die Tatsache, daß diejenigen Inhibitoren (α_1 -Antitrypsin, α_{1x} -Antichymotrypsin, Antileukoprotease), die hauptsächlich die aus Granulozyten freigesetzten neutralen Proteinasen hemmen (Tab. 5), in den meisten, wenn nicht sogar in allen menschlichen Schleimflüssigkeiten gefunden werden.

Auf der anderen Seite werden die plasmatischen Inhibitoren Antithrombin III, $\text{C}\bar{\text{I}}$ -Inaktivator und α_2 -Makroglobulin, die entweder gegen Faktoren der Blutgerinnung, des Fibrinolyse- bzw. des Komplementsystems gerichtet sind oder an der Eliminierung von Proteinasen aus der Zirkulation beteiligt sind, normalerweise nicht in menschlichen Schleimflüssigkeiten gefunden.

Der Zervixmukus enthält auch keinen säurestabilen niedermolekularen Inhibitor, der mit Akrosin, einer Proteinase aus der Akrosomenkappe des Spermiums, interferieren könnte (Schiessler et al. 1977).

6 KLINISCHE BEDEUTUNG DER PROTEINASEINHIBITOREN IM ZERVIXMUKUS UND ANDEREN MENSCHLICHEN SCHLEIMSEKRETEN

Die vorherrschende Eigenschaft von α_1 -Antitrypsin, α_{1x} -Antichymotrypsin und der Antileukoprotease ist also die Hemmung der neutralen Granulozytenproteinasen. Deshalb ist die Annahme berechtigt, daß die Antileukoprotease den lokalen Anteil des neutralisierenden Hemmpotentials stellt, wenn solche Proteinasen entweder physiologischerweise (während der Phagozytose) oder bei lokalen Entzündungsprozessen von zerfallenden Leukozyten freigesetzt werden.

Schon unter physiologischen Bedingungen finden wir eine Anhäufung von Leukozyten in der Zervixflüssigkeit und in der Mukosa, z.B. während der Follikelphase und nach der Befruchtung (Hafez 1973; Jaszczak und Hafez 1973).

Polymorphkernige Leukozyten enthalten nennenswerte Beträge von Proteinasen, die Immunglobuline, Basalmembranen und Glykoproteine abbauen und sogar Kinine, die wirksame Mediatorstoffe bei der Entzündungsreaktion darstellen, freisetzen können (Tabelle 6) (siehe Cline 1975).

Kürzlich konnte erst nachgewiesen werden, daß solche Proteinasen Komplexe mit den Inhibitoren der Schleimsekrete bilden (Hochstrasser et al. 1973; Wallner und Fritz 1974; Hochstrasser und Schorn 1976; Wallner et al. 1976).

Wenn eine solche Komplexbildung stattgefunden hat, kann die auf diese Weise maskierte Leukoprotease durch Säuerung der Schleimproben freigesetzt werden und so die Menge des gebundenen Inhibitors abgeschätzt werden (Hochstrasser et al. 1973; Wallner und Fritz 1974).

Bei massiver Cervicitis und bei Entzündungen des Bronchialtrakts findet man den überwiegenden Teil des Inhibitors in maskierter Form (Hochstrasser et al. 1976 a; Wallner et al. 1976) vorliegen. In einigen extremen Fällen war das inhibierende System sogar soweit erschöpft, daß freie proteolytische Aktivität in den Sekreten nachgewiesen werden konnte.

Die Beobachtung von abgestoßenen und zugrundegegangenen Zellen im zytologischen Abstrich solcher Patientinnen zeigt einen Epitheldefekt an, der wahrscheinlich durch die freien Proteinasen verursacht wurde.

Es liegt nahe, daß bei solch schweren Entzündungen ein totaler Verbrauch der Inhibitoren entweder durch Granulozyten- oder Bakterienproteinasen stattgefunden hat. Daher ist die Schlußfolgerung berechtigt, daß die Bedeutung der Proteinaseinhibitoren in den Schleimsekreten hauptsächlich in einem lokalen Abwehrmechanismus gegen die lytische Aktivität der Granulozyten- und Bakterienproteinasen besteht.

Diese Ansicht wird durch Beobachtungen unterstützt, die darauf hindeuten, daß α_{1x} -Antichymotrypsin und α_1 -Antitrypsin sog. akute-Phase Proteine sind, was bedeutet, daß ihre Konzentrationen im Plasma im Verlauf von Entzündungen beträchtlich ansteigen (Laurell und Jeppson 1975).

7 DIE PROTEINASEINHIBITOREN BEIM BEFRUCHTUNGSVORGANG

Eine direkte Funktion der Proteinaseinhibitoren des Zervixmukus bei der Befruchtung erscheint nach den diskutierten Ergebnissen fraglich. Die Chymotrysin-ähnliche Proteinase (Seminin) des menschlichen Spermas wird durch α_1 -Antitrypsin, α_{1x} -Antichymotrypsin und die Antileukoprotease nicht gehemmt. Akrosin wird entweder gar nicht oder nur relativ langsam durch die Mukusinhibitoren gehemmt (siehe Tab. 2) (Fritz et al. 1972 b; Schiessler et al. 1976). Die Konzentration des Inter- α -Trypsin-Inhibitors, einem wirksamen Inhibitor von Akrosin, ist im Zervixmukus relativ niedrig, außerdem wird es nur gelegentlich dort gefunden. Noch dazu kann keiner dieser Inhibitoren die Akrosomenmembran durchdringen und somit Akrosin im intakten Spermium hemmen (Fritz et al. 1975). Deshalb könnte nur Akrosin, das aus abgebauten Spermienzellen freigesetzt wird, durch α_1 -Antitrypsin oder Inter- α -Trypsin-Inhibitor gehemmt werden.

Eine Schutzfunktion der Inhibitoren des Mukus gegen Phagozytose der Spermien durch Leukozyten erscheint ebenfalls fraglich.

8 KOMPONENTEN DES KALLIKREIN-KININ SYSTEMS IM ZERVIXMUKUS

Betrachtet man die Ergebnisse von Schumacher und Zaneveld (1974), so kann ein indirekter Einfluß der Proteinaseinhibitoren des Mukus auf die Spermienmigration nicht ausgeschlossen werden. Diese Autoren zeigten nämlich, daß der Zusatz von Proteinaseinhibitoren (einschließlich α_1 -Antitrypsin) zu Samenproben eine beträchtliche Abnahme der Spermienmigration im Zervixmukus in-vitro verursachte. Solche Inhibitoren könnten Akrosin hemmen, das von "Pionierspermien" freigesetzt wird. Akrosin kann wiederum Kinine aus Kininogen freisetzen, das sich auch im menschlichen Zervixmukus und wahrscheinlich auch in der Uterus- und Tubenflüssigkeit befindet (Palm und Fritz 1975). Da im Seminalplasma größere Mengen Akrosininhibitoren gefunden wurden (HUSI-II), kann Akrosin im männlichen Genitaltrakt keine Kinine freisetzen.

Der Akrosininhibitor wird während der Ejakulation an das Akrosom gebunden (Dietl et al. 1976) und während der Migration der Spermien in den weiblichen Genitalsekreten wieder abgelöst. Daher ist es gut möglich, daß Akrosin im weiblichen Genitaltrakt eine Rolle als Kinin-freisetzende Proteinase spielt. Dies wird auch durch die Tatsache unterstützt, daß während der Ovulation nur Spuren von Akrosininhibitoren im Zervixmukus vorkommen.

Kinine können die Motilität der Spermien steigern und somit die Spermienmigration in-vitro (Schill et al. 1977). Neuere Forschungsergebnisse machen es wahrscheinlich, daß die Kinine einen direkten Einfluß auf den Metabolismus der Spermien ausüben.

Es wurde auch Kininase-Aktivität im Zervixmukus gefunden (Palm und Fritz 1975). Kininasen können die Anhäufung von Kininen im Mukus über einen physiologischen Spiegel hinaus verhindern und so für die Aufrechterhaltung des Gleichgewichts von Kininerzeugung und Kinininaktivierung verantwortlich sein.

Es befinden sich also zwei Komponenten des Kallikrein-Kinin-Systems im Zervixmukus, nämlich Kininogen und Kininasen. Wenn nun Spuren von Kininogenasen entweder aus dem Seminalplasma oder aus Leukozyten oder anderen Ursprungs Kontakt mit dem Zervixmukus bekommen, werden Kinine freigesetzt.

Neben der Steigerung der Spermienmigration bewirken Kinine eine Kontraktion der glatten Muskulatur oder üben einen Effekt auf die sekretorische Funktion der Zervixmukosa aus.

9 ZUSAMMENFASSUNG

Der menschliche Zervixmukus enthält, wie auch der Bronchialschleim und das Seminalplasma, wirksame Inhibitoren der neutralen Granulozytenproteinasen Elastase, Kathepsin G und Kollagenase. Der niedermolekulare säurestabile Inhibitor, der gegen Elastase und Kathepsin G gerichtet ist, wird von den Epithelzellen der Mukosa produziert, während die übrigen Inhibitoren (α_1 -Antitrypsin, α_{1x} -Antichymotrypsin, Inter- α -Trypsin-Inhibitor) aus dem Plasma stammen und durch Transsudation in den Genitaltrakt gelangen.

Die Funktion dieser Inhibitoren besteht in einem lokalen Abwehrmechanismus gegen die lytische Aktivität von Granulozyten- als auch Bakterienproteinasen.

Gegenwärtige Forschungsergebnisse lassen annehmen, daß diese Proteinaseinhibitoren nicht direkt am Befruchtungsvorgang beteiligt sind.

Die Anwesenheit von Komponenten des Kallikrein-Kinin-Systems wie Kininogen und Kininasen im Zervixmukus deutet darauf hin, daß Kinine entweder an der Spermienmigration durch den Mukus, oder an der sekretorischen Funktion der Epithelzellen oder an der Bewegung der Zilien beteiligt sind.

Tabelle 1 Proteinaseinhibitoren in menschlichen Schleimsekreten

Inhibitor	Vorkommen und Konzentration ^a (mg/ml)		Hemmung von		
	Plasma	Zervixmukus	Seminalplasma	PMN Akrosin Proteasen	
Ursprung im Plasma					
α_1 -Antitrypsin ^b	2	+ ^c	0,05-0,2	+ 0,09	+ ^d
α_{1x} -Antichymotrypsin ^b	0,4	+ ^c	0,03-0,1	+ 0,04	-
Inter- α -Trypsin-Inh.	0,4	(+) ^{c,e}	0-0,2	-	+ ^d
Antithrombin III ^g	0,3	- ^f	-	-	-
C $\bar{I}$ Inaktivator ^g	0,25	- ^f	-	-	-
α_2 -Makroglobulin ^{g,h}	2	-	-	-	+ ^d
Lokal produziert					
Antileukoprotease	-	+	0,05-0,2	+ 0,2	-
HUSI-II	-	-	-	+ 0,1	+

a Durchschnittswerte, die von Schumacher 1973, Schill 1976, Tauber et al. 1976 und Wallner et al. 1976 übernommen wurden

b In allen menschlichen Schleimsekreten anwesend

c In der Mitte des Zyklus extrem niedrige Werte; die Konzentration variiert von Individuum zu Individuum beträchtlich

d Progressive (langsame) Hemmung

e Fehlt bei einigen Individuen

f Wird nur unter der Gabe von hormonellen Kontrazeptiva (Sequenzpräparate) gefunden (cf. Schumacher 1973)

g Inhibitoren von Faktoren der Blutgerinnung, des Fibrinolyse-, Kallikrein-Kinin- und Komplementsystems, cf. Tabelle 1

h Beteiligung an der Beseitigung von Proteinase aus dem Plasma

Tabelle 2 Das Hemmspektrum der bekannten Proteinaseinhibitoren aus dem Plasma (Cf. Heinburger 1975)

++ stark, + schwächer, (+) sehr schwach, - keine Hemmung; p = progressive Hemmung

Inhibitor	Hemmung von								
	Tryp- sin	Plas- min	Plasma Kallikrein	C1- esterase	Throm- bin	Gerinnungs- faktoren	Chymo- trypsin	Elas- tasen	Kathep- sine
α_1 -Antitrypsin	++	p	p	-	-	-	++	++	-
α_{1x} -Antichymo- trypsin	-	-	-	-	-	-	++	-	-
Antithrombin III	(+)	(+)	p	-	++	^b	-	-	-
C1 ⁻ Inaktivator	(+)	+	++	++	-	^c	(+)	-	-
Inter- α -Trypsin Inhibitor	++	+	-	?	-	-	(+)	-	-
α_2 -Makroglobulin	++	++	++	-	+	-	++	++	++

a Katesine mlt saurem pH Optimum

b Faktor Xa, XIa

c Faktor XIa, XIIa

++ stark, + schwach, - keine Hemmung; n.d. noch nicht bestimmt

Proteinase		Inhibitor von		Seminalplasma	
		Zervix- mukus	Bronchial- schleim ^b	HUSI-I	HUSI-II
Trypsin	Mensch, kationisch	n.d.	n.d.	+	+
	Mensch, anionisch	n.d.	n.d.	+	+
	Rind	++	++	d ₁	d ₂
Akrosin	Mensch	-	n.d.	-	d ₃
	Eber	-	-	-	d ₄
	Rind	++	++	d ₄	-
α -Chymotrypsin	Rind	++	++	++	-
Seminin ^c	Mensch	n.d.	n.d.	-	-
Elastase	Mensch, Pankreas	n.d.	n.d.	+	-
	Mensch, Granulozyten	++	++	d ₅	-
	Hund, Granulozyten	++	n.d.	++	-
	Schwein, Pankreas	-	n.d.	-	-
Kathepsin G	Mensch, Granulozyten	++	++	d ₆	-
Kollagenase	Mensch, Granulozyten	-	n.d.	-	-

- a Folgende Substanzen werden weder von HUSI-I noch von HUSI-II gehemmt: Menschen- und Schweine-Plasmin, Kallikrein aus dem Schweinepankreas, Subtilisin, Aspergillus oryzae-Proteinasen, Pronase
- b Von Ohlsson et al.; weitere Literaturhinweise sind dort aufgeführt
- c Chymotrypsin-ähnliche Proteinasen des Seminalplasmas, cf. Zaneveld et al. 1974, Schiessler et al. 1976 c
- d Dissoziationskonstanten der entsprechenden Enzym-Inhibitor-Komplexe K_i (M):
d₁ 2.2×10^{-9} , d₂ 1×10^{-10} , d₃ 2.7×10^{-10} , d₄ 9×10^{-10} , d₅ 2.5×10^{-9} , d₆ 7×10^{-8} .

Tabelle 4 Die Aminosäurezusammensetzung und andere Merkmale der säurestabilen Proteinaseinhibitoren der menschlichen Schleimsekrete

Inhibitor von	Zervix- mukus ^a	Bronchial- schleim ^b	Seminal- plasma ^c	
			HUSI-I	HUSI-II
Aminosäurereste pro Molekül				
Asp	8.9	9	9	6
Thr	3.8	4	4	3
Ser	6.0	6	6	4
Glu	8.8	5	8	3
Pro	10.9	11	12	5
Gly	9.9	9	9	5
Ala	5.1	4	3	1
Cys	(8.5) ^d	14	12	6
Val	4.5	7	5	1
Met	(1.6) ^d	3	3	2
Ile	1.4	1	2	4
Leu	4.3	5	6	2
Tyr	(0.5) ^d	2	2	3
Phe	2.1	2	2	1
Lys	13.2	13	15	3
His	0	0	0	2
Arg	4.7	4	5	5
Total		99	103	56
Molekulargewicht 11 500 ^e		10322	10970	6319
Isoelektrischer Punkt	"basisch"	n.d.	9.5	9.3
N-terminale Rest	n.d.	Tyr	Tyr	Tyr

^a Werte, die von einem 20 Stunden Hydrolysat errechnet wurden, cf. Wallner u. Fritz 1976

^b Von Ohlsson et al. 1977

^c Von Schiessler 1976 (HUSI-I, Form B und HUSI-II, Form IV), es werden die wahrscheinlichsten Werte angeführt

^d Werte aus Experimenten ohne den Abbau während der Hydrolyse zu berücksichtigen

^e Schätzwerte aus Experimenten mit Gelfiltration, cf. Wallner und Fritz 1974

Tabelle 5 Inhibitoren der neutralen Granulozytenproteinasen

++ sehr stark, + stark, (+) schwach, - keine Hemmung

Inhibitor	Mol.gewicht (approx.)	Hemmung von		
		Kollagenase	Elastase	Kathepsin G
α_2 -Makroglobulin ^a	725 000	++	+	++
α_1 -Antitrypsin	50 000	+	++	(+)
α_{1x} -Antichymotrypsin	75 000	-	-	+
Antileukoprotease	11 000	-	++	+

^a Hemmt auch Kathepsin D von polymorphkernigen Leukozyten und ist für die rasche Beseitigung von Proteinase aus dem Plasma verantwortlich

Tabelle 6 Menschliche Granulozytenproteinasen und ihre möglichen Substrate

Granulozytenproteinase	Substrat
Neutrale Proteinase ^a , Kathepsine ^b	
Kollagenase	Glykoproteine Kollagen
Elastase (Neutrale Proteinase)	Elastisches Bindegewebe (Arterienwände, Alveolen, Basalmembranen)
Neutrale Proteinase	Komplementfaktoren (C 1, C 3, C 5)
Neutrale Proteinase (Elastase, Kathepsin G)	Gerinnungsfaktoren (Fibrinogen und Fibrin; Faktor VII, VIII, XII, XIII)
Neutrale Proteinase (Elastase, Kathepsin G)	Immunglobuline, sekretorischer Anteil
Kininogenase	Kininogen (Kinine werden freigesetzt)
Kathepsin D ^b	Leukokininogen (Leukokinine werden freigesetzt)
Kathepsin G, Kininasen	Kinine (Inaktivierung)

^a Der Ausdruck "neutrale Proteinase" beinhaltet Elastase, Kathepsin G, Kollagenase und andere noch nicht so gut bekannte Proteinase, die ihre höchste Aktivität bei einem neutralen oder leicht alkalischen pH haben.

^b Höchste Aktivität bei saurem pH

LEGENDE ZU DEN ABBILDUNGEN 1 - 9

Abb. 1

Die Veränderungen der Sexualhormone, des Zervixschleims, der Vaginalzytologie und der Histologie des Endometriums im Ablauf eines Menstruationszyklus
(Nach Schmidt-Matthiessen)

Abb. 2

Die Proteinaseinhibitoren α_1 -Antitrypsin, Inter- α -Trypsin Inhibitor und α_{1x} -Antichymotrypsin im Zervixmucus während fünf Ovulationszyklen. Der letzte Tag mit niedriger Basaltemperatur wurde zu Tag Null bestimmt. Die Kurven wurden entsprechend angeordnet. Die drei Proteinaseinhibitoren wurden durch mikroradiale Immundiffusionstechnik bestimmt (Schumacher 1968; Schill und Schumacher 1973).

Abb. 3

Die Proteinaseinhibitoren α_1 -Antitrypsin, Inter- α -Trypsin Inhibitor und α_{1x} -Antichymotrypsin im Zervixmucus während fünf Ovulationszyklen unter der Gabe von oralen Kontrazeptiva (Sequenzpräparate) (C-Quens, E.Lilly & Co; ORACON, Mead Johnson & Co). Die Kurven wurden durch mikroradiale Immundiffusionstechnik bestimmt (Schumacher, unveröffentlicht).

Abb. 4

Die Fraktionierung von menschlichem Seminalplasma auf Sephadex G-75 bei einem pH von 7,8

Gestrichelte Linie: Trypsin-hemmende Aktivität in mIU/ml

Ausgezogene Linie: Relative Transmission bei 253 nm

Für Details der Experimente siehe Schiessler 1976

Abb. 5

Die Fraktionierung einer mit Säure behandelten Probe von Zervixmucus auf Sephadex G-50 bei einem pH von 2,2. Inh. = Trypsin-hemmende Aktivität in mIU/ml, cf. die Ordinate.

A, Dextran Blau; B, Chymotrypsinogen; C, Cytochrom-c; D, Trypsin-Kallikrein-Inhibitor aus Rinderorganen.

Für Details der Experimente, siehe Wallner und Fritz 1974.

Abb. 6

Die Lokalisierung der Antileukoprotease in der Schleimmembran der menschlichen Zervix durch Immunfluoreszenz. Es wurden Antikörper (Kaninchen Gamma-Globuline), die gegen die Antileukoprotease des Seminalplasmas produziert worden waren oder unspezifische Gamma-Globuline, die gegen keinen Inhibitor gerichtet waren (Kontrolle, Abb. 6a) und Antikörper der Ziege, die gegen Gamma-Globuline des Kaninchens gerichtet und mit Fluorezein-Isothiocyanat markiert waren, angewendet.

Es wurde die indirekte Immunfluoreszenz-Färbetechnik angewendet (Nairn 1964).

Abb. 7

Der Konzentrationsverlauf der säurestabilen Antileukoprotease und von α_1 -Antitrypsin im Zervixmukus während fünf Ovulationszyklen. Der letzte Tag mit niedriger Basaltemperatur (obere Kurve) wurde zum Tag Null bestimmt; die Kurven wurden entsprechend angeordnet. Die Spiegel der Inhibitoren wurden durch mikroradiale Immundiffusionstechnik bestimmt (Wallner et al. 1976).

Abb. 8

Der Konzentrationsverlauf der säurestabilen Antileukoprotease (—) und von α_1 -Antitrypsin (- - -) während fünf Ovulationszyklen, cf. Abb. 7. Die Inhibitorkonzentrationen sind auf den Albuminspiegel bezogen, der ebenso bestimmt wurde, aber in Abb. 7 nicht gezeigt wird (Wallner und Fritz 1976).

Abb. 9

Der Konzentrationsverlauf der säurestabilen Antileukoprotease im Zervixmukus unter der Gabe von oralen Kontrazeptiva (Sequenzpräparate). Die Konzentration des Inhibitors wurde mit der mikroradialen Immundiffusionstechnik bestimmt und auf den Albuminspiegel bezogen. Es wurden vom 1. - 15. Tag 0.1 mg Äthinylöstradiol und vom 16. - 25. Tag 1.05 mg Norethisteron pro Tag oral gegeben.

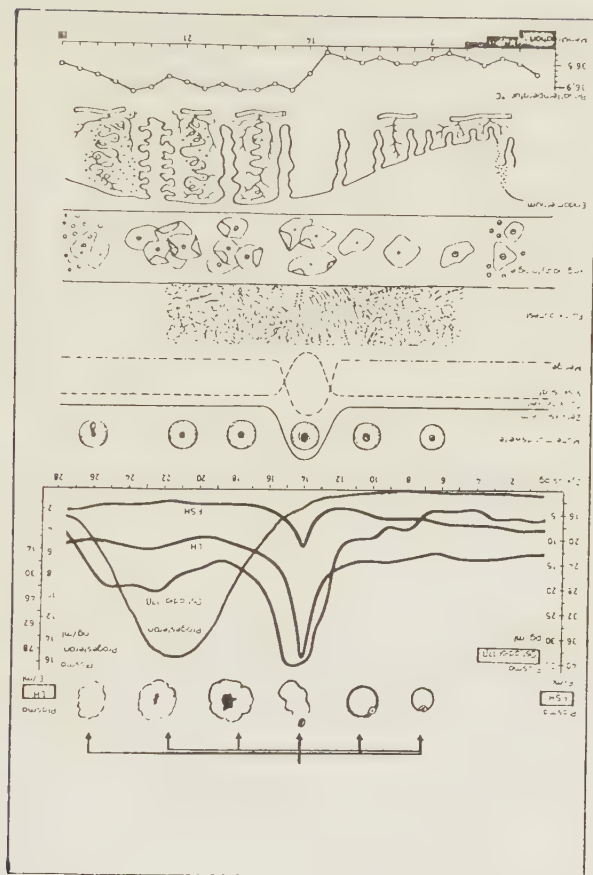


Abb. 1

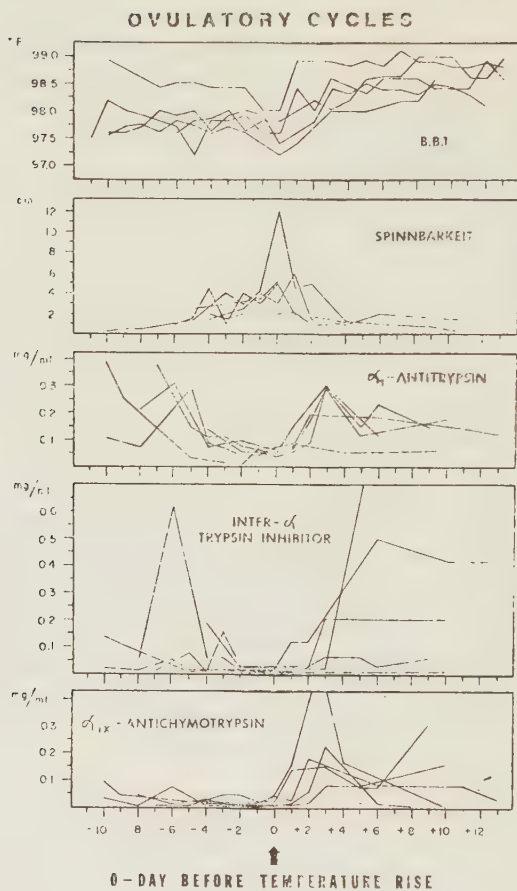


Abb. 2

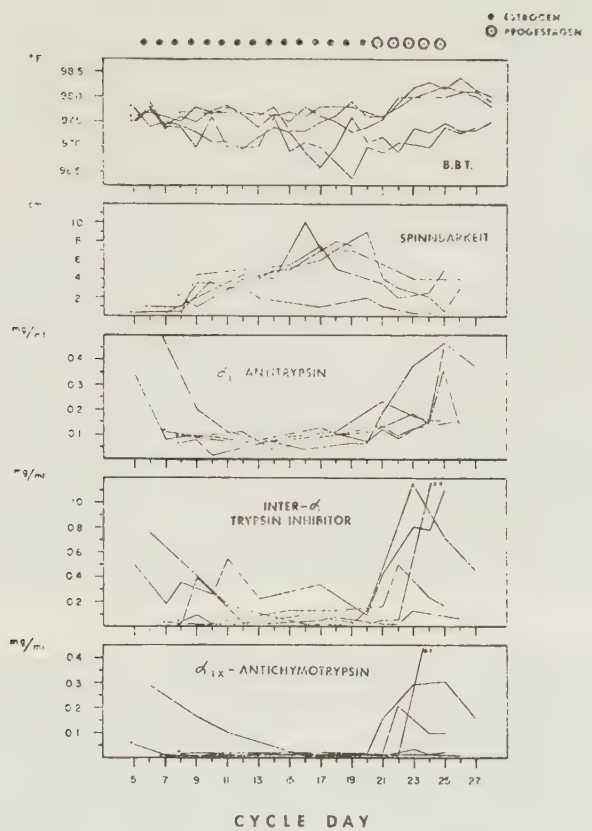


Abb. 3

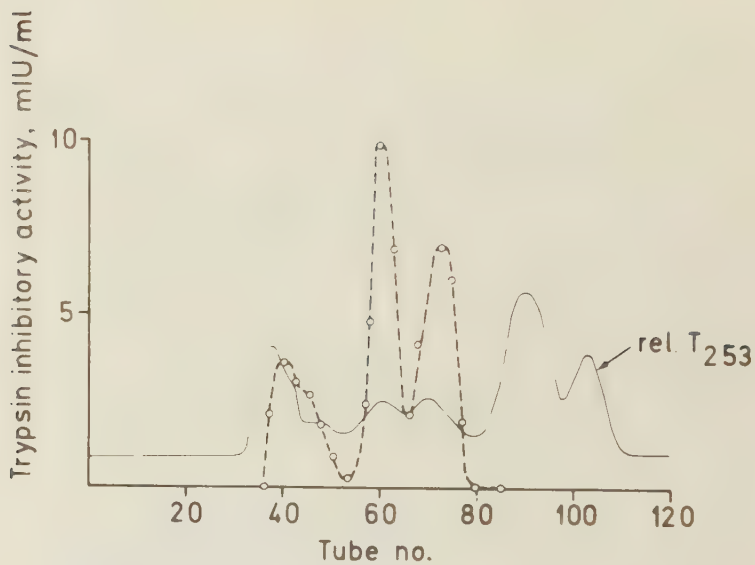


Abb. 4

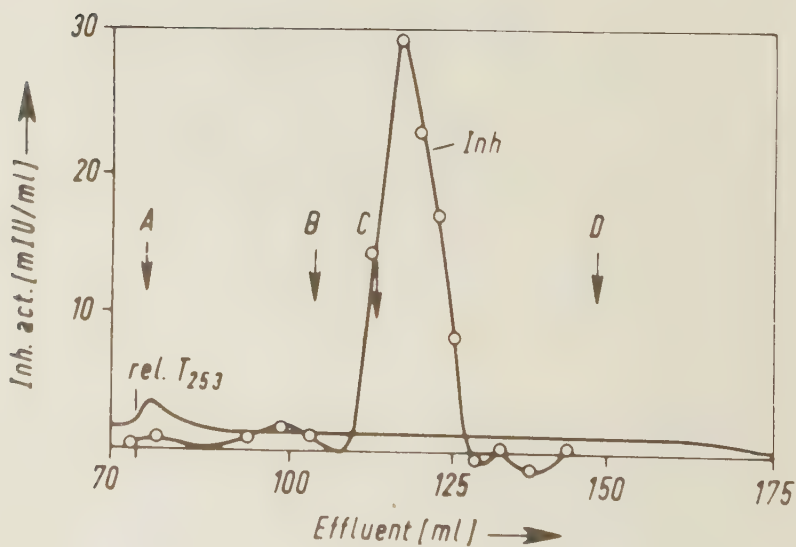


Abb. 5

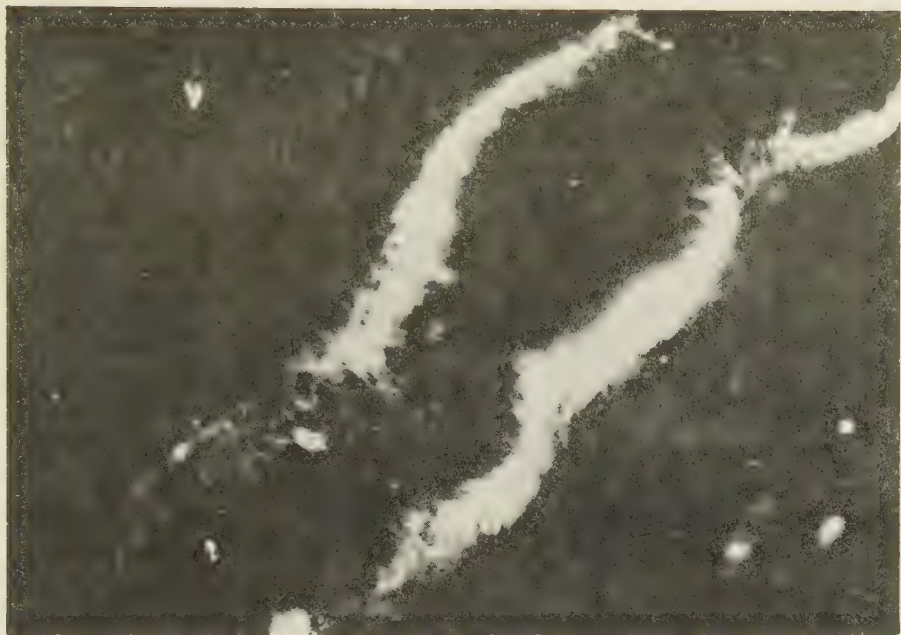


Abb. 6a

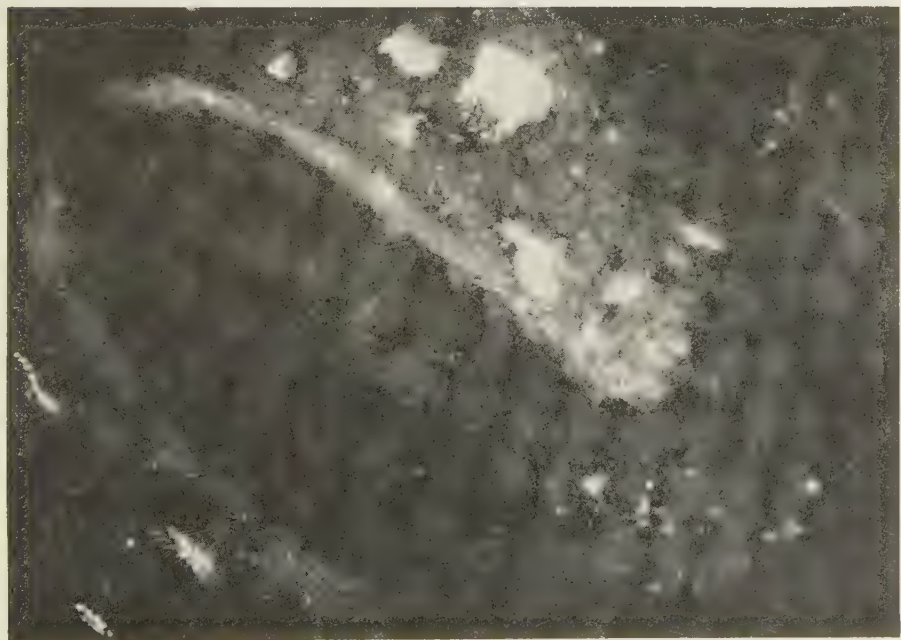


Abb. 6b

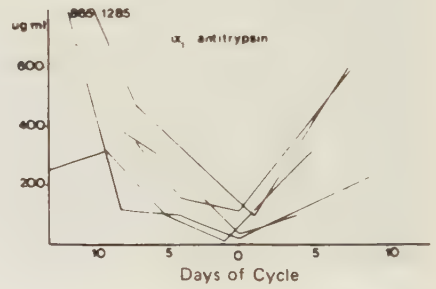
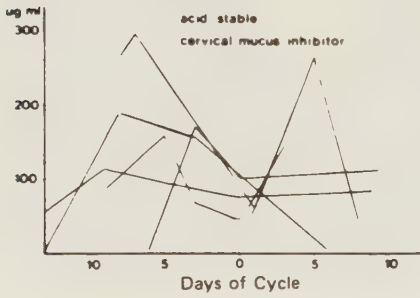
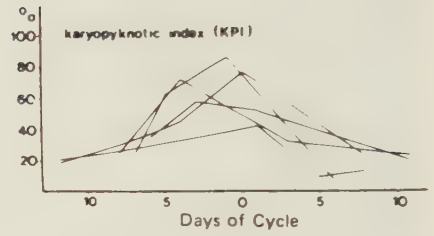
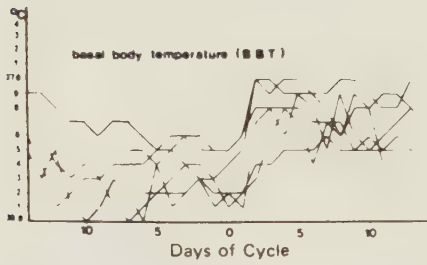


Abb. 7

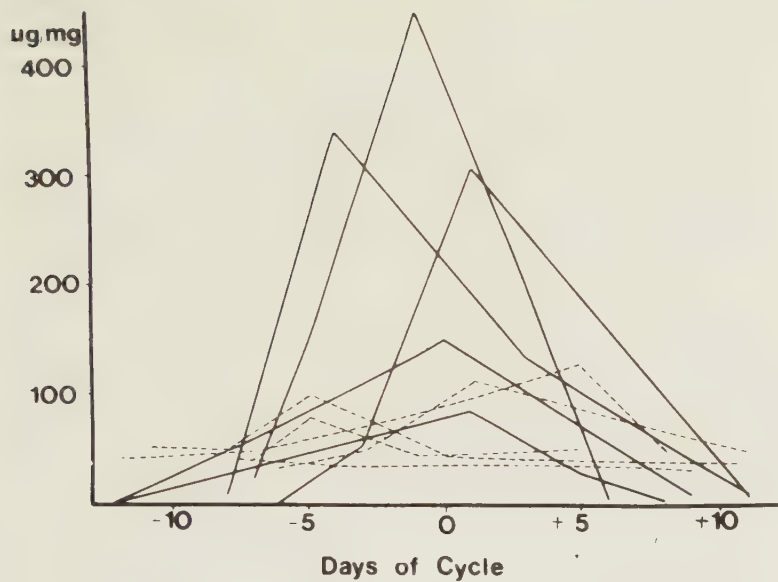


Abb. 8

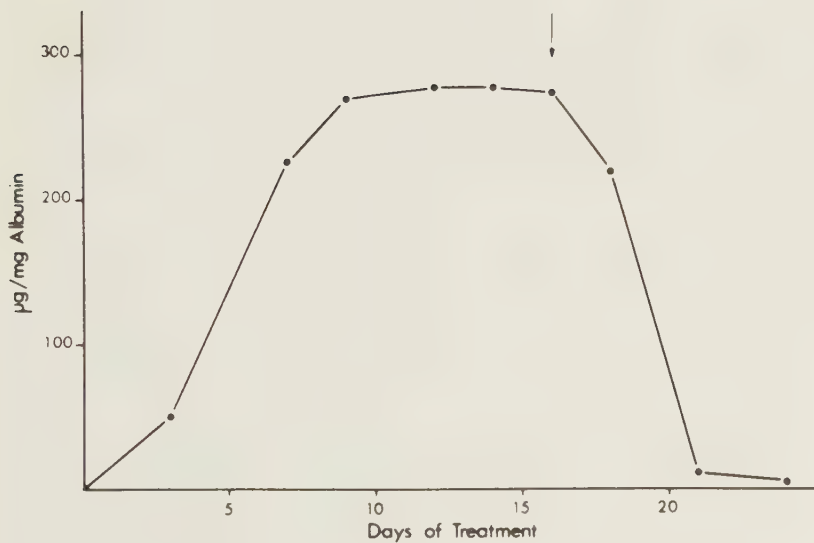


Abb. 9

LITERATURVERZEICHNIS

- 1) Beller, F.K., G. Weiss: The fibrinolytic enzyme system in cervical mucus! *Fert.Steril.* 17: 654-662, 1966
- 2) Bhushana Rao, K.S.P., B. Barbier, P.L. Masson, J.F. Heremans, J. Ferin: Susceptibility of cervical mucus to enzymes. In: *Human Semen and Fertility Regulation in Men*, ed. by E.S.E. Hafez, 237-242. The C.V. Mosby Company, St. Louis 1976
- 3) Cinader, B., A. de Weck (eds): Immunological response of the female reproductive tract, 26-29. Scriptor, Copenhagen 1976
- 4) Cline, M.J. (ed.): The white cell, cf. S. 89-103 ("Neutrophils and the inflammatory process"). Harvard University Press, Cambridge, Mass. 1975
- 5) Dietl, T., J. Kruck, W.-B. Schill, H. Fritz: Localization of seminal plasma proteinase inhibitors in human spermatozoa as revealed by the indirect immunofluorescence technique. *Hoppe Seylers Z.physiol. Chemie* 357: 1333-1337, 1976
- 6) Fink, E., E. Jaumann, H. Fritz, H. Ingrisch, E. Werle: Proteaseinhibitoren im menschlichen Spermaplasma. Isolierung durch Affinitätschromatographie. *Hoppe Seylers Z.physiol.Chemie.* 352: 1591-1594, 1971
- 7) Frey, E.K., H. Kraut, E. Werle (eds): Das Kallikrein-Kinin System und seine Inhibitoren. F. Enke Verlag, Stuttgart 1968
- 8) Fritz, H., M. Arnhold, B. Förg-Brey, L.J.D. Zaneveld, G.F.B. Schumacher: Verhalten der Chymotrypsin-ähnlichen Proteinase aus Humansperma gegenüber Protein-Proteinase-Inhibitoren. *Hoppe Seylers Z.physiol.Chem.* 353: 1651-1653, 1972 a
- 9) Fritz, H., N. Heimbürger, M. Meier, M. Arnhold, L.J.D. Zaneveld, G.F.B. Schumacher: Humanakrosin: Zur Kinetik der Hemmung durch Human-Seruminhibitoren. *Hoppe Seylers Z.physiol.Chem.* 353: 1953-1956, 1972 b
- 10) Fritz, H., W.-D. Schleuning, H. Schiessler, W.-B. Schill, V. Wendt, G. Winkler: Boar, bull and human sperm acrosin - isolation, properties and biological aspects. In: *Proteases and Biological Control*, ed. by E. Reich, D.B. Rifkin, E. Shaw, 715-735. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor 1975
- 11) Fritz, H.: The kallikrein-kinin-system in reproduction-Biochemical Aspects. In: *Kininogenases, Kallikrein*, ed. by G.L. Haberland, J.W. Rohen, C. Schirren und P. Huber, 9-16, Schattauer Verlag 1975
- 12) Fritz, H., H. Schiessler, W.-B. Schill, H. Tschesche, N. Heimbürger, O. Wallner: Low molecular weight proteinase (acrosin) inhibitors from human and boar seminal plasma and spermatozoa and human cervical mucus: isolation, properties and biological aspects. In: *Proteases and Biological Control*, ed. by E. Reich, D.F. Rifkin, E. Shaw, 737-766. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor 1975
- 13) Hafez, E.S.E.: Transport of spermatozoa in the female reproductive tract. *Am.J.Obstet.Gynecol.* 115: 703-717, 1973

- 14) Heimbürger, N.: Proteinase inhibitors of human plasma-their properties and control functions. In: *Proteases and Biological Control*, ed. by E. Reich, D.B. Rifkin, E. Shaw, 367-386. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor 1975
- 15) Hochstrasser, K., K. Schorn: Characterization of proteinase-inhibitor complexes in the purulent secretions of mucous membranes as complexes between leucocytic elastase and proteinase inhibitors. In: *Protides of the Biological Fluids - 23rd Colloquium*, ed. by H. Peeters, 231-234. Pergamon Press, Oxford 1976
- 16) Hochstrasser, K., R. Reichert, E. Werle, H. Haendle: New proteinase inhibitors in the secretion of some mucous membranes of the human body. In: *Protides of the Biological Fluids - 20th Colloquium*, ed. by H. Peeters, 417-424. Pergamon Press, Oxford 1973
- 17) Hochstrasser, K., G. Bretzel, H. Feuth, W. Hilla, K. Lempart: The inter-a-trypsin-inhibitor as precursor of the acid-stable proteinase inhibitors in human serum and urine. *Hoppe Seylers Z.physiol.Chem.* 357: 153-162, 1976
- 18) Jaszczak, S., E.S.E. Hafez: Sperm migration through the uterine cervix in the macaque during the menstrual cycle. *Am.J.Obstet.Gynecol.* 115: 1070-1082, 1973
- 19) Laine, A., J. Lebas, A. Hayem: Proteinase inhibitors in bronchial secretions from patients with Alpha-1-Antitrypsin Deficiency. In: *Protides of the Biological Fluids, 23rd Colloquium*, ed. by H. Peeters, 379-382, Pergamon Press, Oxford 1976
- 20) Laurell, C.-B., J.O. Jeppson: Protease inhibitors in plasma. In: *The Plasma Proteins*, ed. by F.W. Putnam, 229-264. Academic Press, New York 1975
- 21) Linford, E.: Cervical Mucus: An agent or a barrier to conception. In: *J.Reprod.Fert.* 37, 239-250, 1974
- 22) Moghissi, K.S.: Sperm migration through the human cervix in reproduction, ed. by V. Insler and G. Bettendorf, 146-165, Stuttgart 1977
- 23) Moghissi, K.S., R.J. Blandau: Biology of the cervix. Summary of a symposium held at Lake Wilderness, Wash., June 9-12, 1971. *J.reprod.Med.* 8 (1972) 21.
- 24) Morton, D.B., T.D. Glover: Sperm transport in the female rabbit: the role of the cervix. In: *J. of Reproduction and Fertility* (1974) 38, 131-138
- 25) Nairn, R.C. (ed.): *Fluorescent protein tracing*. E.u. S. Livingstone Ltd., Edinburgh 1964
- 26) Odeblad, E., B. Rosenberg: A low viscosity component in human uterine endocervical contents. *Acta Obstet. and Gynecol.Scand.* 47: 345, 1968
- 27) Ohlsson, K.: Interaction between endogenous proteases and plasma protease inhibitors in vitro and in vivo. In: *Bayer Symposium V - Proteinase Inhibitors*, ed. by H. Fritz, H. Tschesche, L.J. Greene, E. Truscheit, 96-104, Springer Verlag, Berlin 1974

- 28) Ohlsson, K.: Interaction between α_1 -antitrypsin and α_2 -macroglobulin in the elimination of proteolytic enzymes. In: *Protides of the Biological Fluids - 23rd Colloquium* ed. by H. Peeters, 43-45. Pergamon Press, Oxford 1976
- 29) Ohlsson, K., U. Akesson: α_1 -Antichymotrypsin interaction with cationic proteins from granulocytes. *Clin.Chim.Acta* 73: 285-291, 1976
- 30) Ohlsson, K.: Granulocyte collagenase and elastase and their interactions with α_1 -antitrypsin and α_2 -macroglobulin. In: *Proteases and Biological Control*, ed. by E. Reich, D.F. Rifkin, E. Shaw, 591-602. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor 1975
- 31) Ohlsson, K., H. Tegner, H. Fritz, H. Schiessler: Immunologic similarity between low molecular weight trypsin-chymotrypsin inhibitors from bronchial secretion and seminal plasma. *Hoppe Seylers Z.physiol.Chem.* 357: 1241-1244, 1976
- 32) Palm, S., H. Fritz: Components of the kallikrein-kinin system in human midcycle mucus and seminal plasma. In: *Kininogenases - Kallikrein*, ed. by G.L. Haberland, J.W. Rohen, C. Schirren, P. Huber, 17-21. F.K. Schattauer Verlag, Stuttgart 1975
- 33) Schiessler, H.: Säurestabile Proteinase-Inhibitoren aus menschlichem Sperma und ihre Zielenzyme. In: *Proteinases und Proteinase-Inhibitoren beim Menschen, Fortschritte der Andrologie*, Vol. 5, ed. by W.-B. Schill, H. Schiessler, 45-102. Grosse Verlag, Berlin 1976.
- 34) Schiessler, H., M. Arnhold, K. Ohlsson, H. Fritz: Inhibitors of acrosin and granulocytic proteinases from human genital tract secretions. *Hoppe Seylers Z.physiol.Chem.* 357: 1251-1260, 1976
- 35) Schiessler, H., M. Arnhold, H. Fritz: Characterization of two proteinase inhibitors from human seminal plasma and spermatozoa. In: *Bayer Symposium V - Proteinase Inhibitors* ed. by H. Fritz, H. Tschesche, L.J. Greene, E. Truscheit, 147-155. Springer Verlag, Berlin 1974
- 36) Schiessler, H., E. Fink, H. Fritz: Acid-stable proteinase inhibitors from human seminal plasma. In: *Methods in Enzymology "Proteolytic Enzymes, Part B"* 45: 847-859, 1976 a
- 37) Schiessler, H., M. Arnhold, H. Fritz: Acid-stable proteinase inhibitors from human seminal plasma: purification and characterization. In: *Protides of the Biological Fluids - 23rd Colloquium*, ed. by H. Peeters, 163-169. Pergamon Press, Oxford 1976 b
- 38) Schill, W.-B.: Quantitative determination of high molecular weight serum proteinase inhibitors in human semen. *Andrologia* 8: 359-364, 1976
- 39) Schill, W.-B., H. Schiessler: Proteinaseinhibitoren im menschlichen Sperma: Quantitative Bestimmung und klinische Aspekte: Vortrag gehalten auf der Jahrestagung der Deutschen und Österreichischen Gesellschaft zum Studium der Fertilität und Sterilität in Igls, Tirol, 10.-11. Juni 1977
- 40) Schill, W.-B.: Die Bedeutung der Cervix uteri für die Fertilität. In: *Deutsche Med. Wochenschrift*, 99. Jahrgang, Nr. 20, S. 1095-1098

- 41) Schill, W.-B: Der Zervixmukus und seine Bedeutung für die Andrologie. .
In: Der Hautarzt 24, 469-474 (1973), Springer Verlag 1973
- 42) Schumacher, G.F.B.: Soluble proteins of human cervical mucus. In: Cervical Mucus in Human Reproduction, ed. by M. Elstein, K.S. Moghissi, R. Borth, S. 93-113. Scribor Copenhagen 1973
- 43) Schumacher, G.F.B., L.J.D. Zaneveld: Proteinase inhibitors in human cervical mucus and their in vitro interactions with human acrosin. In: Bayer Symposium V - Proteinase Inhibitors, ed. by H. Fritz, H. Tschesche, L.D. Greene, E. Truscheit, S. 178-186. Springer Verlag Berlin 1974
- 44) Schumacher, G.F.B.: Lysozyme in human genital secretions. In: Lysozyme 1974, Academic Press, Inc. New York, ed. by E.F. Osserman, R.E. Canfield, S. Beychok. 427-447
- 45) Schumacher, G.F.B., G.L. Wied: Semiquantitative microanalysis of proteins in cervical mucus. Proceedings of the 5th World Congress of Fertility and Sterility. Series No 133, Exerpta Medica Found., Stockholm 1966, S. 713
- 46) Tauber, P.F., L.J.D. Zaneveld, D. Propping, G.F.B. Schumacher: Components of human split ejaculates II. Enzymes and proteinase inhibitors. J. Reprod. Fert. 46: 165-171, 1976
- 47) Tegner, H., K. Ohlsson: Localization of a low molecular weight protease inhibitor to tracheal and maxillary sinus mucosa. Hoppe Seylers Z.physiol.Chem. 358: 425-429, 1977
- 48) Wallner, O.H., H. Fritz: Characterization of an acid-stable proteinase inhibitor in human cervical mucus. Hoppe Seylers Z.physiol.Chem. 352: 709-715, 1974
- 49) Wallner, O., H. Fritz, K. Hochstrasser: An acid-stable proteinase inhibitor in human cervical mucus. In: Protides of the Biological Fluids - 23rd Colloquium, ed. by H. Peeters, S. 177-182. Pergamon Press, Oxford 1976
- 50) Zaneveld, L.J.D., G.F.B. Schumacher, P.F. Tauber, D. Propping: Proteinase inhibitors and proteinases of human semen, In: Bayer Symposium V - Proteinase Inhibitors, ed. by H. Fritz, H. Tschesche, L.J. Greene, E. Truscheit, S. 136-146. Springer Verlag, Berlin 1974.

LEBENS LAUF

geboren am: 6. Dezember 1947

in: Nürnberg

Eltern: Vater, Werner Krumme
Mutter, Ursula Krumme

Schulbildung: 1954-1959 Besuch der Rudolf-Steiner Schule
in Nürnberg
1959-1967 Besuch der Rudolf-Steiner-Schule
in München

Reifeprüfung: 21. Juli 1967 als Externa am Oskar-von-Miller
Gymnasium in München

Studium: 1967-1971 Studium der Anglistik und Geschichte
an der LMU-München
1971-1977 Studium der Humanmedizin
an der LMU-München

Internatsjahr: 1. Oktober 1976 bis 31. Januar 1977 an der
I. Chirurgischen Abteilung des Schwabinger
Krankenhauses München
1. Februar 1977 bis 31. Mai 1977 an der Neurologischen
Klinik der Universität München, Klinikum Großhadern
1. Juni bis 30. September 1977 an der II. Medizinischen
Abteilung der Universität München, Klinikum Großhadern

Approbation: 19. Oktober 1977

